

氧化苦参碱对结肠癌 LoVo 细胞 c-myc, PSMD9, CDK4 mRNA 表达的影响

彭燕¹, 韩凌^{2*}, 孙静², 危建安²

(1. 遵义医学院第五附属医院, 广东 珠海 519100;

2. 广州中医药大学第二临床医学院, 广州 510006)

[摘要] **目的:**探讨氧化苦参碱(oxymatrine, OM)抑制人结肠癌 LoVo 细胞增殖和诱导凋亡的分子作用机制。**方法:**采用流式细胞仪检测 LoVo 细胞凋亡率以及细胞周期分布;采用荧光定量 PCR 法检测 0.25, 0.5 g·L⁻¹ OM 对 LoVo 细胞增殖相关基因 c-myc, 蛋白酶调解因子 9(PSMD9), CDK4 的基因表达的影响。**结果:**0.5 g·L⁻¹ 以下浓度的 OM 作用结肠癌 LoVo 细胞 48 h, 对细胞凋亡无明显影响。0.25 g·L⁻¹ OM 作用 48 h 时可明显抑制人结肠癌 LoVo 细胞 c-myc 基因表达($P < 0.05$)。0.5 g·L⁻¹ OM 作用 48 h 时可明显抑制 LoVo 细胞 c-myc, CDK4 的基因表达($P < 0.01$, $P < 0.01$)。药物作用时间为 96 h 时, 0.5 g·L⁻¹ OM 可明显抑制 c-myc, PSMD9, CDK4 基因表达($P < 0.05$, 或 $P < 0.01$)。**结论:**较低剂量 OM 显著抑制人结肠癌 LoVo 细胞增殖的作用机制, 可能与下调 LoVo 细胞 c-myc, PSMD9, CDK4 表达有关。

[关键词] 氧化苦参碱; LoVo 细胞; 抑制增殖; 凋亡; c-myc; PSMD9; CDK4

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0220-05

Effect of Oxymatrine on Expression of c-myc, PSMD9 and CDK4 mRNA in Human Colon Carcinoma LoVo Cells

PENG Yang¹, HAN Ling^{2*}, SUN Jing², WEI Jian-an²

(1. The Fifth Affiliated Hospital of Zunyi Medicine University, Zhuhai, 519100, China; 2. The Second Clinical Medicine of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the molecular mechanism of inhibiting colon cancer cell strain LoVo proliferation and inducing apoptosis by oxymatrine (OM) **Method:** Flow cytometry was used to detect the LoVo cells apoptosis and cell cycle distribution. Fluorescence quantitative PCR was used to detect cell proliferation-related genes like the c-myc, proteasome modulator 9 (PSMD9), CDK4 gene expression when LoVo was treated with 0.25, 0.5 g·L⁻¹ OM. **Result:** OM had no significant effect on apoptosis in colon cancer LoVo cells when the treatment of OM lasted 48 h and the concentration was lower than 0.5, 0.25 g·L⁻¹ OM can inhibit c-myc gene expression in LoVo when duration of action last 24 h ($P < 0.05$). When the dose increased to 0.5 g·L⁻¹ and duration of action was 48 h, OM could inhibit c-myc, CDK4 gene expression in LoVo cells ($P < 0.01$, $P < 0.01$). When duration of action was extended to 96 h, 0.5 g·L⁻¹ OM could inhibit the c-myc, PSMD9, CDK4 gene expression in LoVo cells ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$). **Conclusion:** OM at Lower dose could significantly inhibit the proliferation of human colon cancer LoVo cells, the mechanism may be related to reducing c-myc, PSMD9, CDK4 expression in LoVo cells.

[Key words] oxymatrine; LoVo cells; inhibiting proliferation; apoptosis; c-myc; PSMD9; CDK4

[收稿日期] 20110730(001)

[第一作者] 彭燕, 主治医师, 从事中医药抗肿瘤药理研究

[通讯作者] * 韩凌, 副研究员, 从事中药免疫药理研究, Tel: 15817180898, E-mail: ertubawen@163.com

苦参为豆科槐属植物苦参 (*Sophora flavescens* Ait.) 的干燥根,始载于《神农本草经》,是我国常用传统中药。其味苦、性寒,具有清热燥湿、杀虫、利尿之功效。苦参含有多种化学成分并具有广泛的生物活性。其主要成分为苦参碱 (matrine) 和氧化苦参碱 (oxymatrine, OM) 等多种生物碱类^[1]。现代药理研究发现苦参生物碱具有调节血脂、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤、抗炎、抗心律失常及增强免疫等功能^[2-3]。近年来,苦参碱和氧化苦参碱的抗肿瘤作用日益引起人们关注,已有多项研究表明^[4-7], OM 对多种肿瘤细胞具有明显的抑制增殖的作用。本研究观察 OM 对人结肠癌 LoVo 细胞的凋亡以及细胞周期相关的 c-myc, PSMD9 以及 CDK4 基因表达的影响,探讨 OM 的作用机制,为进一步指导 OM 的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 细胞 LoVo 细胞(购自武汉中国生物制品典藏中心)。

1.2 药品与试剂 氧化苦参碱(购自陕西一星生物制剂公司,20091218,纯度 > 98%);胎牛血清(美国 Invitrogen 公司产品);MTT(美国 AMRESCO 公司);Annexin V-FITC kit、碘化丙啶 (PI) (BioVision 公司);MEM 培养液, PBS, 0.25% 胰酶(美国 Invitrogen 公司产品);Trizol (Invitrogen), PrimeScript™ RT reagent kit 和 SYBR Premix Ex Taq™ 试剂(购自大连 Takara 公司)。

1.3 仪器 7500 荧光定量 PCR 仪, ABI, 美国; Allegra X-22R 高速冷冻离心机, BECKMAN, 美国; 311 型 CO₂ 培养箱, Thermo, 美国; DMI3000 倒置显微镜, LEICA, 德国; 双人超净工作台, ESCO, 新加坡。

2 方法

2.1 细胞培养与药物配制 结肠癌 LoVo 细胞用含 10% 胎牛血清的 MEM 培养基(含 100 U·mL⁻¹青霉素和 100 U·mL⁻¹链霉素),于 37 °C、饱和湿度、5% CO₂ 培养箱中培养,细胞消化采用 0.25% 含 EDTA 胰酶。氧化苦参碱采用无血清 MEM 配制成浓度为 20 g·L⁻¹ 储存液,0.22 μm 一次性滤器过滤。-20 °C 避光保存备用。使用时分别配为终浓度为 0.1 ~ 0.5 g·L⁻¹。

2.2 细胞凋亡检测 收集药物作用 24 h 的细胞,用 500 μL Binding Buffer 洗涤 1 次,120 目筛网过滤,静置 10 min 后离心,弃去上清后加入 10 μL Annexin V-FITC 和 50 μL PI,混匀避光孵育 15 min

后离心,弃上清后用 500 μL 流式 PBS 重悬细胞,上机检测细胞凋亡情况。

2.3 细胞周期检测 收集药物作用 24 h 的细胞,用 PBS 洗涤 1 次,加入 1 mL 预冷的 70% 乙醇,4 °C 固定过夜。取出细胞后,1 200 r·min⁻¹ 离心 5 min,弃去固定液后用 PBS 洗细胞 1 次,加入 500 μL PI 染色,避光孵育 15 min 后上机检测,分析细胞周期。

2.4 mRNA 表达检测 取对数生长期细胞种 6 孔板,培养 24 h 后加药,设置空白对照组、及高、低剂量 OM 组,每组设 3 个复孔。继续培养 24 h 后,弃去培养液,用预冷的 PBS 洗涤 1 次,弃去 PBS 后加入 1 mL Trizol 并收集细胞,按说明书操作提取总 RNA,用紫外分光光度计测定 A₂₆₀/A₂₈₀,计算 RNA 样品的纯度和浓度。按操作说明书合成 cDNA。按照 SYBR Premix Ex Taq™ 试剂说明进行 real time-PCR 反应,反应体系 20 μL,扩增条件 95 °C 30 s 预变性,95 °C 5 s,60 °C 34 s,40 个循环,每份样品做复孔。

mRNA 相对表达量用比较 CT 值法计算,以看家基因 Gapdh 为内参,用看家基因和靶基因 CT 值差 (ΔCt) 计算靶基因相对看家基因 Gapdh 表达量 [1/(2^{ΔCt})] ,与对照组比较,计算实验组 mRNA 的相对表达量 (Ratio)。

引物应用 Invitrogen 公司在线软件 OligoPerfect™ Designer 设计,用 BLAST 进行比对,由 Invitrogen 公司合成,实验用引物相关情况见表 1。

表 1 实验所用引物

名称	序列(5'-3')	扩增片段长度/bp
H-MYC-F	TGTCAGAGTCCTGAGACAGATCA	135
H-MYC-R	AAGCTCCGTTTTAGCTCGTTC	
H-PSMD9-F	TCCTCTCCATGGTATCAGTGTTTC	130
H-PSMD9-R	GCAAGCTGGTATCTGTATCCAAC	
H-CDK4-R	ACTTACACCCGTGGTTGTTACAC	147
H-CDK4-R	TCAGAGTTTCCACAGAAGAGAGG	
H-gapdh-F	GGCCTCCAAGGAGTAAGACC	147
H-gapdh-R	AGGGGCTACATGGCAACTG	

2.5 统计学方法 结果采用四川大学 PEMS 3.0 统计软件包进行统计。细胞周期和凋亡结果采用 $\bar{x} \pm s$; 细胞增殖抑制和 mRNA 表达结果组间比较采用 *t* 检验; *P* < 0.05 为有统计学意义; 其余实验数据采用平均值法。

3 结果

3.1 OM 诱导结肠癌 LoVo 细胞的凋亡作用 对照

表 2 不同浓度 OM 作用 6,24,48 h 后 LoVo 细胞凋亡率 ($\bar{x} \pm s, n=3$) %

组别	浓度 /g·L ⁻¹	LoVo 细胞凋亡率 ($\bar{x} \pm s, n=3$) %		
		6 h	24 h	48 h
对照	-	3.67 ± 1.52	6.57 ± 1.05	6.20 ± 3.34
OM	0.1	4.07 ± 1.77	6.80 ± 1.59	7.40 ± 1.38
	0.2	4.27 ± 1.66	8.27 ± 2.77	9.80 ± 1.32

组细胞 6, 24, 48 h 3 个时间点的凋亡率逐渐增加。0.1 ~ 0.2 g·L⁻¹ OM 药物作用于 LoVo 细胞, 随着时间延长及剂量的增大, LoVo 细胞的凋亡率也逐渐升

高, 但与对照组相比, 差异无统计学意义。

3.2 对 LoVo 细胞周期的分布的影响 对照组细胞随着时间的推移, G₀/G₁ 期细胞逐渐增加, S 期, G₂/M 期细胞逐渐减少; 与对照组相比, 各浓度 OM 作用 6 h 后, G₀/G₁ 期, S 期细胞逐渐增加, G₂/M 期细胞相对减少, 其中 0.2 g·L⁻¹ 组 S 期的增加有统计学意义 ($P < 0.05$); OM 作用 24, 48 h 后, 各浓度 OM 组均出现 G₀/G₁ 期细胞逐渐减少, S 期, G₂/M 期细胞逐渐增加, 但与对照组相比, 均未出现明显的统计学差异。见表 3。

表 3 不同浓度 OM 作用对 LoVo 细胞周期分布的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$) %

组别	质量浓度 /g·L ⁻¹	6 h			24 h			48 h		
		G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
对照	-	39.13 ± 4.64	42.41 ± 2.46	18.47 ± 2.73	49.62 ± 1.13	37.36 ± 4.12	13.03 ± 4.43	56.66 ± 6.61	29.85 ± 5.92	13.49 ± 5.80
OM	0.1	39.47 ± 2.32	47.98 ± 3.11	12.48 ± 5.38	53.72 ± 2.18	35.46 ± 5.71	10.81 ± 7.46	51.93 ± 3.50	35.18 ± 4.57	12.77 ± 6.61
	0.2	40.12 ± 2.55	51.63 ± 3.99 ¹⁾	8.25 ± 5.67	48.20 ± 3.65	41.65 ± 3.47	10.14 ± 7.09	51.08 ± 2.19	31.67 ± 1.52	17.31 ± 0.83

注: 与对照组相比¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.3 对 LoVo 细胞 c-myc, PSMD9, CDK4 mRNA 表达的影响

3.3.1 相关基因的特异性引物熔解曲线及扩增曲线 基因扩增后, Gapdh, c-myc, PSMD9 和 CDK4 基因扩增产物的熔解曲线、扩增曲线见图 1。各基因扩增曲线均呈明显的 S 型曲线, 扩增产物的熔解曲线均为特异高尖的信号峰, 说明扩增产物都单一, 无非特异性扩增片段。见图 1。

3.3.2 OM 对 LoVo 细胞 c-myc, PSMD9, CDK4 表达的影响 0.25 g·L⁻¹ OM 组作用 48 h, c-myc 表达下调有统计学意义 ($P < 0.05$); 0.5 g·L⁻¹ OM 组作用 48 h, c-myc, CDK4 表达下调有统计学意义 ($P < 0.01$); 0.5 g·L⁻¹ OM 组作用 96 h, c-myc, PSMD9, CDK4 表达下调有统计学意义 (其中 c-myc 表达 $P < 0.05$, PSMD9, CDK4 表达 $P < 0.01$)。见表 4。

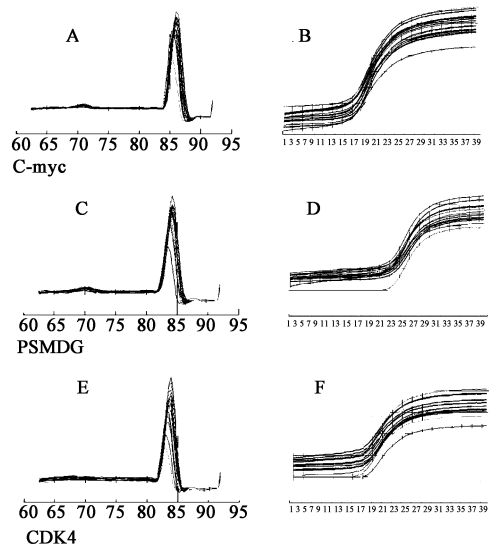


图 1 C-myc, PSMD9, CDK4 各基因扩增产物的熔解曲线 (A, C, E) 和扩增曲线 (B, D, F)

表 4 OM 对 LoVo 细胞 c-myc, PSMD9, CDK4 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	质量浓度 /g·L ⁻¹	48 h			96 h		
		c-myc	PSMD9	CDK4	c-myc	PSMD9	CDK4
对照	-	1.03 ± 0.03	1.28 ± 0.24	1.13 ± 0.12	1.06 ± 0.15	1.04 ± 0.08	1.08 ± 0.08
OM	0.25	0.86 ± 0.09 ¹⁾	1.32 ± 0.19	1.13 ± 0.23	0.75 ± 0.11	0.79 ± 0.13	0.85 ± 0.17
	0.5	0.70 ± 0.07 ²⁾	1.01 ± 0.16	0.68 ± 0.07 ²⁾	0.68 ± 0.03 ¹⁾	0.56 ± 0.06 ²⁾	0.59 ± 0.01 ²⁾

注: 与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

目前在对氧化苦参碱进行的体外实验中,所使用的剂量主要有 $>1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的高剂量组,以及 $<0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的较低剂量组。研究发现 OM 高、低剂量体外对肿瘤细胞的作用方式及机制均存在差异。

如陆丽华^[8]等分别以 $2, 3, 4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 氧化苦参碱干预结肠癌 SW116 细胞 24 h 或 48 h,认为氧化苦参碱可通过影响细胞周期相关通路以抑制人结肠癌细胞增殖。刘益均^[9]等观察氧化苦参碱对胃癌 SGC-7901 细胞增殖和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达的影响。结果发现低质量浓度氧化苦参碱($0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)对细胞增殖抑制作用不明显,高质量浓度($>1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)则能显著抑制细胞的增殖,抑制效应随着时间和浓度的增加呈逐渐增强。陆燕燕^[10]也进一步证实,氧化苦参碱(OM)在质量浓度 $>2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对人胃癌 SGC-7901 细胞具有杀伤作用,而当质量浓度 $<1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 则无明显的细胞毒性作用。

前期的实验已经表明,OM 使用剂量 $<0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,具有抑制结肠癌 LoVo 细胞生长的作用。因此本研究继续选择较低剂量 OM ($<0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 为研究对象,探讨 OM 的作用方式及机制。研究发现较低剂量 OM 对 LoVo 细胞凋亡率无明显影响, $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ OM 作用 6 h 时,可明显延长 LoVo 细胞 S 期分布,其余作用时间对 LoVo 细胞周期分布影响不明显。因此本研究继续选择 c-myc, PSMD9, CDK4 基因,探讨 OM 对细胞增殖以及细胞周期相关的基因表达的影响。

c-myc 是位于 8q24 的原癌基因,在转录调控机制中发挥核心作用,对细胞增殖、生长、分化、凋亡及促进新生血管形成等具有重要影响^[11]。研究表明在一部分 c-myc 过量表达的肿瘤中,人为地降低其表达水平可抑制肿瘤的生长^[12]。

本实验中检测到 $0.25, 0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ OM 对 LoVo 细胞作用 48, 96 h 后, c-myc 基因均明显下调,推测低浓度 OM 抑制 LoVo 细胞增殖的机制可能与下调 c-myc 的表达有关。

泛素-蛋白酶体复合通路(ubiquitin-proteasome pathway, UPP)是 Hershko 等在 20 世纪末发现的 1 种高效蛋白质降解通路,该通路通过蛋白酶体选择性降解细胞内泛素化的蛋白质,不但能破坏损伤陈旧的蛋白质,而且能够参与调节细胞的多种重要生命过程,精确降解细胞内各种目的靶蛋白,进而参与基因转录、细胞周期调节,以及受体胞吞、抗原呈递

等各种细胞生理过程^[13]。许多研究表明,很多抑制蛋白酶体活性的药物可以促进肿瘤细胞凋亡,杀死细胞,克服抗药性,增强肿瘤细胞对放射治疗的敏感性^[14]。例如 p53 产物被 MDM2(癌基因调节蛋白鼠双微粒体, murine double minute 2)调控从核内向细胞质转运,使之被泛素化后被 26S 蛋白酶体降解而失去活性^[15]。

本实验中,我们发现 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ OM 作用 LoVo 细胞 96 h 后明显下调蛋白酶体(proteasome 26S subunit, non-ATPase, 9) PSMD9 基因的表达,推测低剂量 OM 可能通过下调 PSMD9 的表达,而起到抑制 LoVo 细胞增殖的作用。

cyclin D1, CDK4 是 G/S 期关键的正性调节因子,两者首先结合形成 cyclin D1/CDK4 复合物,激活抑癌基因 pRb, pRb 磷酸化后,与转录因子 E2F 分离,解除了对 E2F 的抑制作用,使 E2F 发挥转录活性,从而促进细胞增殖^[16-17]。当 cyclin D1, CDK4 基因过度激活时,则 cyclin D1, CDK4 蛋白持续高表达,将导致 G 期缩短,提前进入 S 期,使细胞增殖失控,最终形成肿瘤^[18]。Cyclin D1 与 CDK4 的共同调节作用在肿瘤的发生机制中具有重要意义^[19-20]。朱玉娟^[21]等报道苦参素具有治疗大鼠实验性肝癌的作用,其机制与显著抑制肝组织中 cyclin D1 和 CDK4 的表达作用有关。

笔者的实验结果发现, $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ OM 对 LoVo 细胞作用 48, 96 h 均可显著下调 CDK4 基因的表达,而在前面的研究中发现,OM 作用后可使 LoVo 细胞 S 期显著延长。推测 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ OM 对 LoVo 细胞的增殖抑制可能与下调 CDK4 表达有关。而 $0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ OM 仅见在作用于 LoVo 细胞 48 h 时,显著下调 c-myc 基因表达,对 PSMD9 及 CDK4 基因表达未见明显影响。因此,该浓度 OM 抑制 LoVo 细胞增殖的作用机制仍需进一步研究。

总之,低浓度 OM 对 LoVo 细胞的作用可能与高浓度诱导凋亡的作用方式不同。从本实验结果可以推测低浓度 OM 可能通过降低 LoVo 细胞 c-myc 途径抑制 LoVo 细胞的增殖;也可能通过抑制蛋白酶体,阻滞泛素-蛋白酶体复合通路,保护相关抑癌基因,达到抑制肿瘤增殖的作用;同时与下调 CDK4, 使细胞周期阻滞于 G/S 有关。

[参考文献]

- [1] 赵焕霞. 苦参片中苦参碱和氧化苦参碱的含量测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(2): 13.

- [2] 朱晓伟, 宝金荣, 布仁. 苦参碱和氧化苦参碱抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 化学试剂, 2010, 32(1): 32.
- [3] 陈大中卜, 赵润琴. 高效液相色谱法测定艾愈片中苦参碱和氧化苦参碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(3): 20.
- [4] 张于人, 朱金水, 王小银, 等. 氧化苦参碱注射液联合小剂量紫杉醇对人胃癌 SGC-7901 细胞血管内皮生长因子及 CXCR4 趋化因子受体 4 表达的影响[J]. 中西医结合学报, 2010, 8(11): 1029.
- [5] 张琼, 潘平东. 氧化苦参碱对人卵巢癌 HO-8910 细胞的作用及其机制的初步研究[J]. 医学信息: 上旬刊, 2010, 23(18): 3381.
- [6] 王文战. 氧化苦参碱诱导视网膜母细胞瘤细胞株 SM-106 凋亡的研究[J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(15): 83.
- [7] 刘丽敏, 刘华钢, 毛俐, 等. 苦参碱和氧化苦参碱体外对肿瘤细胞增殖的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(11): 35.
- [8] 陆丽华, 童锦禄, 冉志华, 等. 氧化苦参碱对人结肠癌细胞株 SW1116 细胞周期通路相关调控因子的影响[J]. 胃肠病学, 2008, 13(7): 1353.
- [9] 刘益均, 郑军, 肖文波. 氧化苦参碱对人胃癌 SGC-7901 细胞增殖及血管内皮生长因子表达的影响[J]. 中国癌症杂志, 2010, 20(1): 22.
- [10] 陆燕燕, 汪永录, 倪克梁, 等. 氧化苦参碱对人胃癌 SGC-7901 细胞株的杀伤作用[J]. 世界肿瘤杂志, 2007, 6(4): 266.
- [11] Ako K, Kikuchi N, Naoya Nakamura, Tetsuo Kuze. Characterization of de novo diffuse large B-cell lymphoma with a translocation of c-myc and immunoglobulin genes [J]. Leuk Res, 2008, 32(8): 1176.
- [12] Kimura S, Maekawa T, Hirakawa K, et al. Alterations of c-myc expression by antisense oligodeoxynucleotides enhance the induction of apoptosis in HL-60 cells [J]. Cancer Res, 1995, 55(15): 1379.
- [13] Ciechanover A. Intracellular protein degradation: from a vague idea, through the lysosome and the ubiquitin-proteasome system, and onto human diseases and drug targeting (Nobel Lecture) [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2005, 44(37): 5944.
- [14] 张丹丹, 张玉泉. 泛素-蛋白酶体通路与肿瘤发生的研究进展[J]. 实用癌症杂志, 2010, 25(6): 672.
- [15] Brooks C L, Gu W. p53 ubiquitination: Mdm2 and beyond [J]. Mol Cell, 2006, 21(3): 307.
- [16] Blain S W. Switching cyclin D-Cdk4 kinase activity on and off [J]. Cell Cycle, 2008, 7(7): 892.
- [17] Liu N, Fang H, Li Y, et al. Recent research in selective cyclin-dependent kinase 4 inhibitors for anti-cancer treatment [J]. Curr Med Chem, 2009, 16(36): 4869.
- [18] Butt A J, Caldon C E, McNeil C M. Cell cycle machinery: links with genesis and treatment of breast cancer [J]. Adv Exp Med Biol, 2008, 630: 189.
- [19] Yeh C T, Lu S C, Chen T C, et al. Aberrant transcripts of the cyclin-dependent kinase-associated protein phosphatase in hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Res, 2000, 60(9): 4697.
- [20] Hui A M, Makuuchi M, Li X. Cell cycle regulators and human hepatocarcinogenesis [J]. Hepatogastroenterology, 1998, 45(23): 1635.
- [21] 朱玉娟, 周爱玲, 茅家慧. 苦参素对实验性肝癌 PCNA, cyclinD1, CDK4 表达的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2005, 10(1): 52.

[责任编辑 聂淑琴]